

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CAMPUS PROFESSOR ANTÔNIO GARCIA FILHO
CURSO DE FARMÁCIA

ALISSON DA COSTA SOUZA

**PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE
LINHAGENS DE *Staphylococcus aureus* ISOLADAS DE
ESTUDANTES DE ENFERMAGEM DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SERGIPE CAMPUS LAGARTO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Lagarto, Sergipe
Junho, 2017

ALISSON DA COSTA SOUZA

**PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE
Staphylococcus aureus ISOLADAS DE ESTUDANTES DE ENFERMAGEM DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CAMPUS LAGARTO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Farmácia do Campus de Lagarto da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para obtenção do diploma de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Ciro Marques Cavalcante

Lagarto, Sergipe

Junho, 2017

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CAMPUS DE LAGARTO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S729p Souza, Alisson da Costa
Prevalência e perfil de resistência de linhagens de *Staphylococcus aureus* isoladas de estudantes de enfermagem da Universidade Federal de Sergipe/ Alisson da Costa Souza; orientador Rafael Ciro Marques Cavalcante. – Lagarto/SE, 2017.
45 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) –
Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. *Staphylococcus aureus*. 2. Prevalência. 3. Resistência. I. Cavalcante, Rafael Ciro Marques orient. II. Título.

CDU 616-083:579.69

ALISSON DA COSTA SOUZA

**PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE
Staphylococcus aureus ISOLADAS DE ESTUDANTES DE ENFERMAGEM DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CAMPUS LAGARTO**

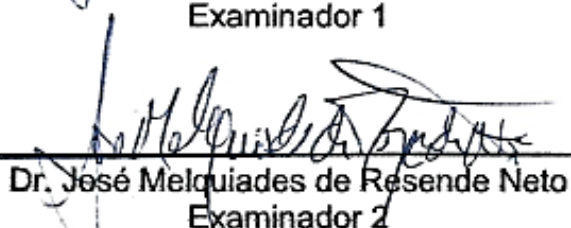
Trabalho de Conclusão de curso apresentado ao
Departamento de Farmácia da Universidade Federal de
Sergipe Campus de Lagarto, como requisito parcial para
obtenção do diploma de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Ciro Marques Cavalcante

Aprovado em: 05/ 06/ 2017



Dr. James Almada da Silva
Examinador 1



Dr. José Melquiades de Resende Neto
Examinador 2

RESUMO

PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE *Staphylococcus aureus* ISOLADAS DE ESTUDANTES DE ENFERMAGEM DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CAMPUS LAGARTO

Alisson da Costa Souza, Lagarto/SE, 2017

Introdução: O *Staphylococcus aureus* é um microrganismo gram positivo, considerado o principal agente etiológico de infecções nosocomiais e comunitárias. A maioria dos estudos de isolamento e identificação desse patógeno é realizada com profissionais de enfermagem, por possuírem maior tempo de contato com os pacientes durante as internações. No entanto, os alunos de enfermagem, que iniciam as visitas ao hospital logo nos primeiros semestres do curso, ficam normalmente fora desses estudos. A importância dessa população reside na inexperiência desses alunos que pode levar a transmissão dos *S. aureus* da microbiota residente aos pacientes hospitalizados. **Objetivo:** Determinar a prevalência e o perfil de resistência de linhagens de *S. aureus* isoladas de estudantes de enfermagem da Universidade Federal de Sergipe Campus Lagarto. **Métodos:** Inicialmente, aplicou-se um questionário para caracterização sociodemográfica dos voluntários. Após a coleta do material biológico das narinas dos voluntários, inoculou-se em caldo BHI acrescido de 7,5% de NaCl. Em seguida, procedeu-se o isolamento e a identificação das cepas por meio de provas bioquímicas. O Teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA) foi realizado pelo método de disco difusão e de acordo com as recomendações do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). **Resultados:** Observou-se uma prevalência de 39,09% de *S. aureus* entre os alunos. Quanto ao perfil de resistência, observou-se uma elevada taxa de resistência para azitromicina e eritromicina, e uma taxa moderada para tetraciclina e ciprofloxacino. **Conclusão:** Detectou-se uma alta prevalência de indivíduos colonizados por *S. aureus*. Outros testes precisam ser feitos para detecção de genes de resistência.

Palavras chaves: *Staphylococcus aureus*; Prevalência; Resistência.

ABSTRACT

PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE *Staphylococcus aureus* ISOLADAS DE ESTUDANTES DE ENFERMAGEM DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE CAMPUS LAGARTO

Alisson da Costa Souza, Lagarto/SE, 2017

Introduction: *Staphylococcus aureus* is a gram positive microorganism, considered the main etiological agent of nosocomial and community infections. Most of the studies of isolation and identification of pathogens are performed with the nursing service, because they have a longer time of contact with patients during hospitalizations. However, in nursing students, who start as hospital visits as early as the first semesters of the course, they are usually rehearsed. An important one for the population residing in the inexperience of the students who can take a transmission of *S. aureus* of the resident microbiota to hospitalized patients.

Objective: To determine a prevalence and resistance profile of strains of *S. aureus* isolated from nursing students of the Federal University of Sergipe Campus Lagarto.

Methods: Initially, a questionnaire was applied for socio-demographic characterization of the volunteers. After collection of the biological material from the volunteers' nostrils, it was inoculated into BHI broth plus 7.5% NaCl. In Q., the isolation and identification of the strains were carried out by means of biochemical tests. The antimicrobial susceptibility test (TSA) was elaborated by the diffusion dialing method and according to the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Results:** A prevalence of 39.09% of *S. aureus* among students was observed. Regarding the resistance profile, a high rate of resistance is observed for azithromycin and erythromycin, and a moderate rate for tetracycline and ciprofloxacin. **Conclusion:** A high prevalence of contact colonized by *S. aureus* was detected. Other tests were done to detect resistance genes.

Key words: *Staphylococcus aureus*; Prevalence; Resistance.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
2.1 HISTÓRICO	11
2.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.3 COLONIZAÇÃO	13
2.4 FATORES DE VIRULÊNCIA	13
2.4.1 ÁCIDOS TEICÓICOS E PEPTIDEOGLICANO	14
2.4.2 PROTEÍNA A	14
2.4.3 CATALASE	14
2.4.4 COAGULASE	15
2.4.5 TOXINAS ESTAFILOCÓCICAS	15
2.5 RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS	16
3 OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVO GERAL	19
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO	20
4.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO	20
4.3 CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	20
4.4 ASPECTOS ÉTICOS DO ESTUDO	21
4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES	21
4.6 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	21
4.6.1 MEIOS DE CULTURA	21
4.6.2 COLETA DE AMOSTRAS	22
4.6.3 IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA DE <i>Staphylococcus spp.</i>	22
4.6.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	22
4.6.5 PROVA DA CATALASE	23
4.6.6 PROVA DA TERMONUCLEASE	23
4.6.7 PROVA DA COAGULASE	24
4.6.8 TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS (TSA)	25
4.7 CONFECÇÕES DE GRÁFICOS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS	26

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1 CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DA AMOSTRA	27
5.2 PREVALÊNCIA DE <i>S. aureus</i> OBSERVADA NA POPULAÇÃO ESTUDADA	30
5.3 PREVALÊNCIA DE <i>S. aureus</i> RELACIONADA AO ANO DE GRADUAÇÃO	31
5.4 PERFIL DE RESISTÊNCIA DE <i>S. aureus</i> ISOLADOS	33
6 CONCLUSÃO	36
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
8.1 APÊNDICE 1	42
8.2 APÊNDICE 2	43

1 INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é considerado o patógeno bacteriano mais frequente nos ambientes comunitários e hospitalares e está associado a várias formas de infecções, que vão desde infecção leve de pele a infecções invasivas, por exemplo, septicemia fulminante fatal. Estas infecções possuem maior gravidade quando são causadas por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), um tipo de *S. aureus* resistente a antibióticos beta-lactâmicos, o que gera desafios no tratamento e o aumento da morbimortalidade (OKAMO et al., 2016).

Este microrganismo é uma bactéria pertencente ao grupo dos cocos gram-positivos, podendo ser encontrado em diversas partes do corpo humano como, fossas nasais, garganta, intestinos e pele, sendo o epitélio nasal o que se destaca como o local de maior colonização. A prevalência nesse sítio anatômico chega, a 80% na população adulta (ATIQUE et al., 2012). Além dessas características, esse patógeno possui alta capacidade de desenvolver resistência aos antimicrobianos, especialmente no ambiente hospitalar, onde esses fármacos são rotineiramente utilizados, muitas vezes de forma indiscriminada (ARANTES et al., 2013).

O *S. aureus* pode ser também encontrado nos mais variados ambientes e materiais utilizados por profissionais de saúde. A disseminação deste microrganismo em ambientes hospitalares é frequente, o que compromete os indivíduos deste local, e principalmente os pacientes imunocomprometidos. Assim, é de extrema importância estudos investigativos nestes ambientes a fim de intervir na prevenção e controle de infecções, minimizando a transmissão do patógeno (NASCIMENTO; RAMOS, 2016).

Outras infecções relacionadas ao *S. aureus* são as causadas por cepas denominadas de CA-MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina adquiridos na comunidade). Estas cepas estão habitualmente associadas a crianças, jovens e pessoas saudáveis, especialmente as que vivem aglomeradas ou que têm estrito contato físico umas com as outras (FELDHAUS et al., 2016).

Normalmente, os estudos envolvendo a detecção de *S. aureus* multirresistente têm como público alvo o ambiente hospitalar, bem como os profissionais de saúde. Isso se deve ao fato desses terem um maior contato com os

pacientes. Desta forma, é possível perceber que estudos deste tipo ignoram a determinação da prevalência e do perfil de resistência em estudantes de enfermagem, que não tem experiência e podem prontamente servir de fonte de disseminação na comunidade e no meio hospitalar durante visitas e estágios nos hospitais (RODRIGUES et al., 2016).

Sendo assim, o público do presente estudo foi intencionalmente direcionado aos estudantes de enfermagem da Universidade Federal de Sergipe do campus Professor Antônio Garcia Filho. Esses estudantes entram em contato com pacientes hospitalares já no início da graduação o que pode levar a colonização da pele e das mucosas por cepas multirresistentes. Como foi citado, essa população inexperiente pode ser potencialmente perigosa na disseminação dessas cepas para pacientes internos e demais profissionais de saúde. Diante do contexto apresentado, o presente estudo teve como objetivo determinar a prevalência de colonização, bem como o perfil de resistência de linhagens de *Staphylococcus aureus* isoladas de estudantes de enfermagem da Universidade Federal de Sergipe Campus Lagarto.

Após a obtenção dessas informações, os hospitais e unidades em que esses estudantes estão inseridos podem tomar as medidas necessárias para prevenir e ter o controle de infecções hospitalares, bem como ter ciência das cepas multirresistentes circulantes.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 HISTÓRICO

Os *Staphylococcus spp.* são patógenos humanos antigos, inicialmente descritos por Robert Koch por volta do ano de 1878 e depois cultivados por Louis Pasteur em 1880. Pertencem à família dos cocos Gram positivos chamados *Micrococcaceae*, sendo considerado o principal patógeno humano (RODRIGUES et al., 2016). Um dos motivos deste microrganismo ser considerado um dos principais agentes infecciosos de humanos é a sua facilidade em desenvolver resistência a antibióticos, como é o *S. aureus* metilicina resistente (MRSA), que se tornou um problema mundial no caso de infecções (GELATTI et al., 2009).

Considerando que os primeiros registros de casos de resistência bacteriana foram feitos por volta da década de 1940, essa problemática ainda constitui um problema atual e tão relevante que a Organização Mundial de Saúde considerou como um desafio global pela Aliança Mundial para Segurança do Paciente em 2008 (EVANGELISTA; OLIVEIRA, 2015). Nazareth e colaboradores (2012) demonstraram que o primeiro caso de MRSA foi relatado no Reino Unido por volta do ano de 1961, e atualmente é considerado um dos principais microrganismos resistentes a antimicrobianos, tanto no ambiente hospitalar como na comunidade. Nos últimos anos, foi possível perceber o crescimento do número de infecções causadas por *Community-associated MRSA* (CA-MRSA) em indivíduos saudáveis, sem fatores de risco para *Hospital-acquired MRSA* (HA-MRSA), ou seja, sem estar em ambientes onde a circulação de cepas deste tipo é maior.

Em meados da década de 1990, foram registrados surtos de cepas de MRSA em comunidades em que os indivíduos não tinham qualquer relação com os serviços de saúde, comprovando a disseminação de cepas resistentes em ambientes até então considerados livres desses patógenos (ALBUQUERQUE et al., 2015). Inicialmente, as cepas de MRSA podiam ser rastreadas com facilidade até uma fonte hospitalar ou unidade de saúde. Entretanto, cada vez mais as cepas de MRSA são encontradas na comunidade sadia (EKO et al., 2015).

2.2 CARACTERÍSTICAS DE *Staphylococcus aureus*

Os estafilococos são cocos Gram e catalase positivos, com aproximadamente 0,5 a 1,5 μm de diâmetro, imóveis, não esporulados. Eles podem se agrupar em diferentes arranjos, isolados, pares, em cadeias curtas, ou agrupados em formato semelhante a cachos de uva (Figura 1) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; LIMA et al., 2015).

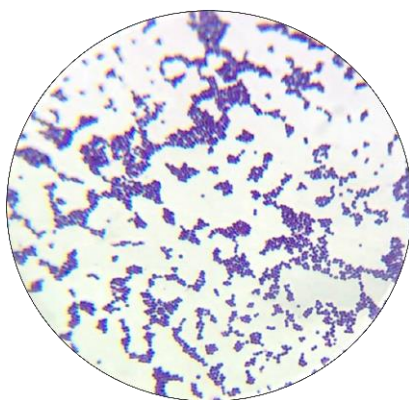


Figura 1: Micrografia de um cultivo de *S. aureus* corado pela técnica de Gram. Aumento de 1000x. Destaque para o arranjo dos cocos em cachos de uva corados em violeta, características típicas do gênero *Staphylococcus*. **Fonte:** Arquivo pessoal.

Esses microrganismos estão presentes em diversas regiões do corpo humano, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele. Geralmente, causam infecções quando há rompimento de barreira cutânea, pois o oportunismo também é uma de suas características. A região do epitélio nasal se destaca como o local de maior colonização, onde a prevalência chega até 80% em populações adultas (ATIQUE et al., 2012; EVANGELISTA; OLIVEIRA, 2015). Isso acontece porque como constituinte da microbiota normal humana, esta bactéria não representa um risco considerado, assim esses indivíduos podem carregá-la por um longo período como portadores assintomáticos (ALBUQUERQUE et al., 2015).

Contudo, em situações de imunossupressão a presença de *S. aureus* pode favorecer a ocorrência de infecção. Em geral, estes microrganismos estão associados a infecções de pele e tecidos moles podendo também ocasionar doenças mais graves e até mesmo fatais, tais como pneumonia e sépsis (EVANGELISTA; OLIVEIRA, 2015; WAN et al., 2016)

2.3 COLONIZAÇÃO

Um dos fatores importantes que aumenta o risco de desenvolvimento de infecções é a colonização por *S. aureus*. Diante disto, outros estudos do mesmo seguimento apontam que a região nasal é considerada como reservatório primário para *S. aureus* em pessoas colonizadas. Já em relação ao número de pessoas colonizadas, calcula-se que 25% da população normal podem ser colonizados assintomáticos (CARVALHO et al., 2016; LOPES et al., 2016). Se tratando de estudantes e profissionais da área da saúde, esta porcentagem varia entre 20% e 80%, sendo que a incidência de cepas multirresistentes é bem maior que na população normal. Isso acontece justamente pelo contato maior com o ambiente hospitalar onde circula uma maior variedade de cepas (ATIQUE et al., 2012; KPELI et al., 2016).

O estudo de Carvalho e colaboradores (2016), destaca que quando se trata do Brasil os números variam ainda mais, tendo em vista que não existem dados concretos das taxas de colonização da população geral. Dessa forma, estudos relacionados ao isolamento identificação e perfil de resistência a antimicrobianos da espécie são importantes para elucidação desses parâmetros em populações específicas.

2.4 FATORES DE VIRULÊNCIA

Como mencionado anteriormente, o *S. aureus* é responsável por desenvolver infecções de grande porte nos seres humanos. Essa propriedade é evidenciada pela presença de uma série de características que conferem vantagens de sobrevivência ao patógeno, conhecidas por fatores de virulência. Esses fatores podem possibilitar a esse microrganismo capacidade de adesão a superfícies e tecidos, evacuar-se do sistema imunológico e também causar efeitos tóxicos aos hospedeiros. Dentre os principais fatores de virulência estão os ácidos teicóicos, a proteína A, as enzimas catalase e coagulase, bem como as toxinas estafilocócicas (COSTA et al., 2013)

2.4.1 ÁCIDOS TEICÓICOS E PEPTIDEOGLICANO

Os *S. aureus* possuem vários componentes em sua parede celular, entre eles, o ácido teicóico e o peptidoglicano são os mais abundantes. O ácido teicóico representa de 30% a 50% do peso da parede celular. Esses, são polímeros específicos que contém fosfato e normalmente estão ligados covalentemente a partes do ácido N-acetilmurâmico da camada de peptidoglicano, ou a lipídios na membrana. A parte hidrofóbica do ácido confere um papel de aderência (CERVANTES-GARCÍA; GARCÍA-GONZÁLEZ; SALAZAR-SCHETTINO, 2014). Já o peptidoglicano é formado por várias cadeias de glicano de 10 a 12 subunidades intercaladas, de ácido N-acetilmurâmico e de N-acetilglicosamina. Possui cadeias laterais de oligopeptídios que são ligadas às subunidades de ácido N-acetilmurâmico. Essas são ligadas de forma cruzada através de pontes peptídicas. Nos *S. aureus* essas cadeias são ligadas por pontes de pentaglicina, unidas a L-lisina em uma cadeia de oligopeptídio e a D-alanina de outra cadeia, o que confere uma maior resistência de sua parede celular (MURRAY, 2009; ALBUQUERQUE et al., 2015).

2.4.2 PROTEÍNA A

A superfície externa da grande maioria dos *S. aureus* é coberta por um fator de virulência conhecido como proteína A. Esta proteína está ligada à camada de peptidoglicano, a qual possui a capacidade de se ligar à porção Fc de imunoglobulinas IgG1, IgG2 e IgG4. Esta habilidade dificulta a eliminação do microrganismo por intermédio dos anticorpos, pois impede a opsonização mediada por anticorpo e a consequente fagocitose por macrófagos. A proteína A pode também ser secretada para o meio externo (Proteína A livre), ligando-se aos anticorpos formando imunocomplexos os quais podem causar hipersensibilidades e possível dano renal (LACEY; GEOGHEGAN; MCLOUGHLIN, 2016).

2.4.3 CATALASE

A catalase é uma enzima com a capacidade de catalisar a degradação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio (Figura 2). A produção de catalase

confere ao *S. aureus* proteção contra o estresse oxidativo do microambiente do fagolisossomo, bem como auxilia na degradação de espécies reativas de oxigênio geradas pelo metabolismo aeróbio. Além disso, serve de prova bioquímica para diferenciar o gênero *Staphylococcus*, produtor de catalase, do gênero *Streptococcus*, que não produz essa enzima (CERVANTES-GARCÍA; GARCÍA-GONZÁLEZ; SALAZAR-SCHETTINO, 2014).

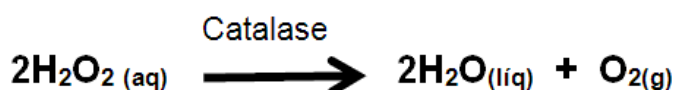


Figura 2: Reação de degradação do peróxido de hidrogênio catalisada pela enzima catalase. **Fonte:** ANVISA, 2013.

2.4.4 COAGULASE

Grande parte das cepas de *S. aureus* produz uma enzima denominada de coagulase. Como o próprio nome sugere, essa enzima é capaz de formar coágulos. Esse é obtido após a conversão de fibrinogênio em fibrina pela referida enzima. As cepas podem secretar esse fator no meio (coagulase livre) ou o possuírem aderido à parede celular (coagulase ligada)(CERVANTES-GARCÍA; GARCÍA-GONZÁLEZ; SALAZAR-SCHETTINO, 2014). A produção da coagulase pode gerar um coágulo em volta dos microrganismos, o que dificulta a ação de anticorpos, células fagocíticas e substâncias antimicrobianas. A identificação desta enzima, por meio da prova da coagulase, é um dos principais testes bioquímicos que distingue o *S. aureus*, coagulase positiva, das demais espécies do gênero, coagulase negativa. (MURRAY, 2009; ATIQUÉ et al., 2012)

2.4.5 TOXINAS ESTAFILOCÓCICAS

O *S. aureus* produz várias toxinas com potencial patogênico entre essas, a toxina esfoliativa A, as enterotoxinas e a toxina-1 da síndrome do choque tóxico (TSST-1). Essas toxinas pertencem a uma classe de polipeptídeos chamada de superantígenos. As quais se ligam às moléculas da classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC II) localizado na superfície dos macrófagos, que

interagem com a Região Variável da subunidade β de Receptores específicos das Células T ($V\beta$ TCR), resultando na liberação de citocinas tanto pelos macrófagos (IL- 1β e TNF- α), como pelas células T (IL-2, IFN- γ , e TNF- β). A liberação de TNF- α e TNF- β está associada à hipotensão e choque, enquanto que a liberação de IL- 1β está associada a febre (ALVAREZ; MIMICA, 2012).

2.5 RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

No princípio, as infecções causadas por *S. aureus* eram tratadas utilizando a penicilina, por ser um fármaco eficiente, de amplo espectro e que até o momento não havia registros de microrganismos resistentes a ele. Entretanto, na década de 60, foram relatadas as primeiras cepas resistentes a esse fármaco. Apesar de todo o avanço tecnológico, a resistência antimicrobiana ainda representa um grande desafio a saúde pública, pois acaba limitando as opções de tratamento farmacológico, o que pode prolongar a duração do processo infeccioso e consequentemente aumentar o tempo de permanência do paciente nas instituições de cuidado (SALES et al, 2012).

Grande parte das cepas de *S. aureus* adquiriram um plasmídeo que codifica uma penicilinase, também chamada de β -lactamase, enzima sintetizada por uma gama de espécies de bactérias, preferencialmente as do gênero de *Staphylococcus* que inativam o anel β -lactâmico da molécula de penicilina por hidrólise do mesmo (Figura 3). Diante desse contexto, foi desenvolvido um grupo de fármacos resistentes à ação das β -lactamases, sendo eles: a nafcilina, oxacilina e meticilina. Porém, em meados da década de 70 foram relatadas as primeiras cepas resistentes à essa classe de penicilinas (LIMA et al., 2015).

Algumas enzimas sintetizadas por esses microrganismos são responsáveis pela síntese da parede celular, essas enzimas são denominadas de proteínas ligadoras de penicilinas (*Penicillin Binding Proteins-PBP*). As PBP são o principal alvo dos antibióticos β -lactâmicos, que podem ter efeito bacteriostático, inibindo a formação da parede celular, ou efeito bactericida, que promove a lise celular causando sua morte (LIMA et al., 2015).

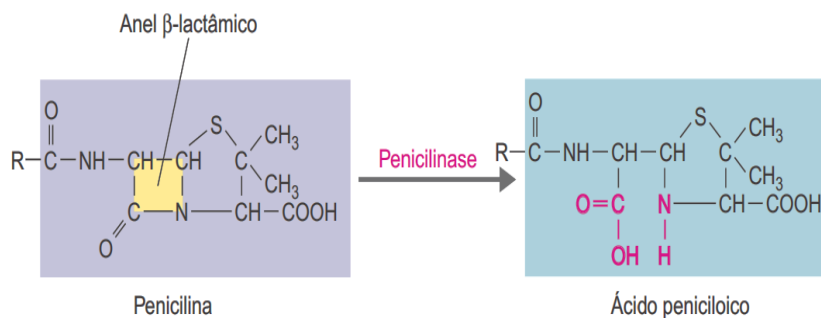


Figura 3: Representação do efeito da penicilinase sobre as penicilinas. Destaque para destruição do anel betalactâmico simbolizado por um quadro em amarelo. **Fonte:** TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. – Porto Alegre, Artmed, 2012.

Os *S. aureus* resistentes à meticilina (*Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* – MRSA) são caracterizados pela presença do gene *mecA* que codifica PBP alteradas, denominadas de PBP2a ou PBP2'. Essas últimas possuem pouca afinidade aos antibióticos β -lactâmicos o que dificultam sua ação na inibição da síntese da parede celular (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

Outra preocupação é a resistência a outras classes de antimicrobianos que até então eram consideradas as últimas opções disponíveis no tratamento de infecções causadas por MRSA. Como é o caso da vancomicina, um glicopeptídeo, utilizado no tratamento das infecções causadas MRSA desde a década de 70. Esta classe de antimicrobianos atua inibindo a biossíntese da parede celular, através da ligação ao terminal carboxílico de resíduos de D-ala-D-ala, um precursor do peptidoglicano. Com isso ocorre a formação de um complexo não covalente estável, que impede a sua utilização na síntese da parede celular. Porém, o que se sabe à respeito do mecanismo de resistência a este antimicrobiano é que ele é mediado pelo gene *vanA*, adquirido de *Enterococcus faecalis* por meio de transferência horizontal (OLIVEIRA et al., 2014).

Um dos fatores que acelera o surgimento de novas cepas multirresistentes é o uso indiscriminado de antimicrobianos. As principais situações que resultam na utilização inadequada de antibióticos são, o desconhecimento da patogenia, incerteza do diagnóstico e a não conscientização ou até mesmo descaso dos profissionais a cerca da seriedade do problema da resistência bacteriana (SALES; SILVA, 2012).

As cepas desenvolvem resistência aos antibióticos devido a um fenômeno natural, semelhante a seleção natural, resultado da pressão exercida pelo uso de antibióticos, ou seja, as cepas se aprimoram desenvolvendo mecanismos de resistência induzida pelo uso constante dos antibióticos (LOUREIRO et al., 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Determinar a prevalência e o perfil de resistência de *Staphylococcus aureus* em estudantes de Enfermagem da Universidade Federal de Sergipe – Campus Lagarto.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Traçar perfil dos estudantes de enfermagem da Universidade Federal de Sergipe – Campus Lagarto;
- Avaliar o conhecimento sobre infecções hospitalares dos estudantes de Enfermagem da UFS-Lagarto;
- Determinar a prevalência de *S. aureus* em estudantes de Enfermagem da UFS-Lagarto;
- Relacionar a prevalência de alunos colonizados por *S. aureus* com o ciclo do aluno na universidade;
- Conhecer o perfil de resistência das linhagens isoladas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO

O presente estudo foi realizado com amostras obtidas na Universidade Federal de Sergipe – Campus Lagarto ao longo do ano de 2017. Parte dos procedimentos experimentais foram realizados nos laboratórios da Universidade Aberta do Brasil (UAB/UFS), Colônia Treze, Lagarto-Sergipe e nos laboratórios do curso de Farmácia na Universidade Federal de Sergipe – Campus Lagarto.

4.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Este estudo teve como público alvo os acadêmicos do curso de Enfermagem, do primeiro ao quinto ano letivo, da Universidade Federal de Sergipe - Campus Lagarto. O curso oferta 50 novas vagas a cada processo seletivo e grande parte dos alunos são oriundos de outras cidades do estado de Sergipe. Essa população tem acesso a ambientes hospitalares e centros de saúde comunitários frequentemente durante as aulas e práticas.

Critérios de Inclusão

- Estar matriculado no curso de enfermagem da Universidade Federal de Sergipe – Campus Lagarto.
- Ter concordado em participar do estudo e assinado o Termo de consentimento Livre e Esclarecido específico desta pesquisa (Apêndice 1).

4.3 CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Os participantes envolvidos neste estudo tiveram plena ciência dos procedimentos realizados e dos objetivos da pesquisa de acordo com o explicitado no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, que foi assinado no ato da coleta do material biológico. Sendo assim, as amostras foram coletadas por livre e espontânea vontade dos participantes.

4.4 ASPECTOS ÉTICOS DO ESTUDO

Todos os dados obtidos dos participantes ficaram em sigilo, respeitando a privacidade dos alunos e a confidencialidade dos dados recolhidos.

O estudo respeitou fielmente a resolução nº 466/12 e está inscrito no Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal de Sergipe, CAAE nº 64951716.7.0000.5546.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES

A fim de caracterizar nossa população, adaptamos um questionário desenvolvido e validado por Nogueira (2014) (Apêndice 2). O mesmo está dividido em quatro partes. Na primeira parte, pretende-se caracterizar os discentes de enfermagem relativamente à sua situação acadêmica, na segunda parte conhecer o nível de formação dos estudantes na área de Prevenção e Controle da Infecção Hospitalar, na terceira parte, conhecer o nível de conhecimentos que estes possuem na área da prevenção e controle de infecção por MRSA e VRSA, e na quarta os conhecimentos no autocuidado no tocante ao uso de antibióticos.

4.6 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.6.1 MEIOS DE CULTURA

Para os procedimentos propostos no estudo foram utilizados os seguintes meios de cultura: caldo *BHI* - *Brain Heart Infusion* (Infusão de cérebro e coração), acrescidos de cloreto de sódio (7,5%), para coleta, transporte e incubação da amostra. Ágar Sal Manitol para isolamento presuntivo das cepas de *Staphylococcus spp*, Ágar DNase para realização de prova de Termonuclease e Ágar *Mueller Hinton* para realização do Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) (DIAWARA et al., 2014).

4.6.2 COLETA DE AMOSTRAS

As amostras foram coletadas com o auxílio de *swabs* estéreis, previamente umedecidos em solução de NaCl 0,9% estéril. Os *swabs* foram introduzidos nas narinas fazendo movimentos rotatórios pelo próprio participante do estudo para se evitar contaminação cruzada. Posteriormente, o *swab* foi inoculado em meio *BHI* salino para transporte até o laboratório, foi incubado a 37 °C por período de 16 a 24 horas sob agitação constante de 200 rpm (ATIQUE et al., 2012).

4.6.3 IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA DE *Staphylococcus spp.*

Após a incubação inicial, as amostras foram semeadas em Ágar Sal Manitol e incubadas a 37 °C por 18 a 24 horas para isolamento presuntivo de *Staphylococcus spp.* Decorrido esse período, selecionou-se quatro colônias com crescimento característico as quais foram inoculadas novamente Ágar Sal Manitol, com o objetivo de certificar tratar-se de uma colônia pura e clonal (ATIQUE et al., 2012; DIAWARA et al., 2014).

Desta forma, foram previamente consideradas como *Staphylococcus spp.* amostras que conseguiram fermentar o manitol, sendo necessário a realização das próximas provas de identificação, como coloração por técnica de Gram, prova da catalase, pesquisa das enzimas DNase e coagulase para confirmação da espécie *S. aureus* (DIAWARA et al., 2014).

4.6.4 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

Essa etapa foi conduzida após a preparação e observação de lâminas coradas por gram das colônias isoladas de *Staphylococcus sp.* Resumidamente os passos seguidos foram, fixação de um esfregaço da cultura em lâmina para microscopia, aplicação de uma solução de cristal violeta, lavagem com água e aplicação de lugol, descoloração com uma solução de álcool-acetona e finalmente a aplicação de fucsina. Após isso, foi realizada a observação microscópica. As amostras que se apresentaram em forma de cocos Gram positivos arranjados em cachos foram submetidas às provas posteriores, as demais foram descartadas.

4.6.5 PROVA DA CATALASE

Nesta etapa realizou-se a prova da catalase, utilizando peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 10% (v/v) e o cultivo do microrganismo em meio líquido ou em ágar. O procedimento consistiu em colocar as colônias na solução de H₂O₂ e observar se houve formação de bolhas. Como controle positivo do ensaio, utilizou-se a cepa padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 (catalase positiva) e como controle negativo, a cepa padrão de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 (catalase negativa). Sabe-se que os *S. aureus* são catalase positiva, assim ao observar a formação de bolhas durante a realização da prova a cepa considerou-se como catalase positiva (Figura 4).



Figura 4: Imagem ilustrativa de uma prova da catalase. Destaque para formação de bolhas nos ensaios indicados pelos números 1 e 2, prova positiva e em 3, prova negativa. **1 - Controle positivo; 2 - Amostra; 3 - Controle negativo. **Fonte:** Arquivo pessoal.

4.6.6 PROVA DA TERMONUCLEASE

Para a realização da pesquisa desta enzima, utilizou-se o meio ágar DNase. O princípio deste teste consiste na degradação do DNA em oligonucleotídeos pela ação da enzima DNase. A reação é percebida quando há o aparecimento de um halo de clarificação no meio de cultura (Figura 5) formado após adição de 10 mL de solução a 0,5 M de ácido clorídrico (HCl). Sendo assim, o teste é positivo para *S. aureus* se for verificado o aparecimento do halo de clarificação no meio de cultura (KATEETE et al., 2010). Apesar dos *S. aureus* serem DNase positiva, o teste não determina a confirmação da cepa analisada como sendo *S. aureus*, pois alguns estafilococos coagulase negativa podem produzir quantidades variáveis de DNase. Desta forma, os positivos devem ser confirmados por outro teste, por exemplo, a prova da coagulase (ZURITA et al., 2010).

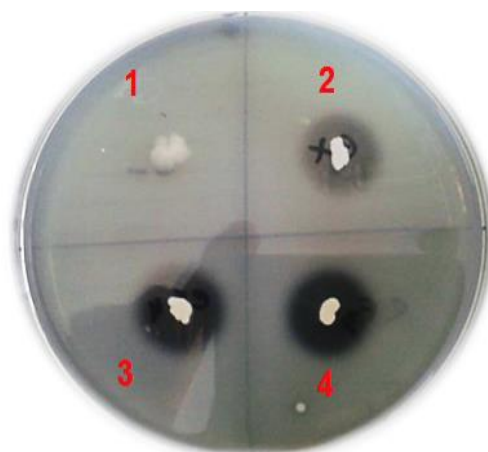


Figura 5: Imagem ilustrativa de um teste para detecção de termonuclease. Destaque para o halo de clarificação formado pela ação da enzima, nos locais identificados com os números 2, 3 e 4, prova positiva, e para a ausência de halo indicado pelo número 1, prova negativa. **1 - Controle negativo; 2 - Controle positivo; 3 - amostra; 4 - amostra. **Fonte:** Arquivo pessoal.

4.6.7 PROVA DA COAGULASE

Esse teste detecta a produção de coagulase livre que reage com um fator plasmático de coagulação formando um complexo que atua na conversão do fibrinogênio em fibrina. Para isso adicionou-se 0,1 mL de cultivo da cepa suspeita em caldo *BHI* incubado por 18-24 horas em um tubo de ensaio com 0,1 mL de plasma. Após a adição do plasma, procedeu-se a incubação por até 4 horas a 35°C em estufa. A observação do coágulo foi visualizada com a inclinação suave do tubo de ensaio a 90 graus da vertical, sendo positivo para *S. aureus* quando há a formação de um coágulo (Figura 5), caso contrário, o teste informa que a cepa suspeita não é *S. aureus*. Assim, o teste de coagulase é determinante para o a espécie *S. aureus*, tendo em vista que a grande maioria das espécies de *Staphylococcus spp.* são coagulase negativa (ANVISA, 2013).



Figura 6: Prova da coagulase Positiva. **Fonte:** Arquivo pessoal

4.6.8 TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS (TSA)

O TSA foi realizado pelo método de disco difusão (Kirby; Bauer, 1965) de acordo com as recomendações do *CLSI* (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) versões 2016 e 2006. Foram testados os seguintes antimicrobianos, oxacilina (1 µg), vancomicina (30 µg), ciprofloxacino (5 µg), tetraciclina (30 µg), amoxicilina + ácido clavulânico (30 µg), azitromicina (15 µg), eritromicina (15 µg) e norfloxacino (10 µg). Para realizar o teste prepara-se um inóculo em caldo *BHI*. Observada turbidez do inóculo, ajusta-se a densidade óptica por método de espectrofotometria em 0,2 A a 600 nm. Após esse procedimento, com o auxílio de um *swab* estéril, semeia-se as cepas de *S. aureus* em placas de petri com Ágar *Mueller Hinton* de forma que preencha toda superfície da placa. Após secagem, os discos dos antimicrobianos são colocados sobre o meio de cultura com o auxílio de uma pinça flambada e resfriada. Posteriormente, segue-se a incubação a 37°C durante 16-18 horas. Passado esse período, os diâmetros dos halos de inibição (Figura 7) foram medidos utilizando um paquímetro e comparados com os padrões estabelecidos pelo *CLSI*.



Figura 7: Placa representativa de um antibiograma após o período de incubação de 18 horas. **Fonte:** Arquivo pessoal.

Os discos de oxacilina e amoxicilina + ácido clavulânico foram avaliados seguindo o que diz o *CLSI* volume 27, numero um de 2006, pois a versão 2016 não dispõe de valores dos diâmetros dos halos para esses antibióticos. De acordo com Vieira e colaboradores (2017) a oxacilina pode ser usada para determinar resistência das cepas, no entanto, possui uma fraca relação com a presença do gene *mecA* determinante da resistência a meticilina. Sendo assim, a oxacilina deve ser

analisada utilizando o disco de cefoxitina, bem como a vancomicina que deve ter seu perfil de resistência avaliado através de CIM (concentração inibitória mínima).

4.7 CONFECÇÕES DE GRÁFICOS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O tratamento dos dados obtidos, bem como as análises estatísticas foram conduzidas utilizando os programas computacionais Microsoft Excel[®] 2010 e Graphpad Prism[®] 5.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICA DA AMOSTRA

Um total de 133 alunos participaram deste estudo. A grande maioria (81,2%) tinha idade entre 16 e 24 anos (Tabela 1). A predominância do sexo feminino foi observada em todas as turmas do curso, totalizando uma população de 79,7% para essa variável (Tabela 2).

Tabela 1: Distribuição da amostra por idade.

IDADE	<i>n</i>
16 a 24	108 (81,20%)
25 a 29	20 (15,03%)
30 a 35	0 (0%)
35 ou mais	5 (3,75%)

Tabela 2: Distribuição da amostra por sexo

SEXO	<i>n</i>	PERCENTAGEM (%)
Masculino	27	20,30
Feminino	106	79,70
Total	133	100

Vale salientar que pelo motivo das turmas do curso apresentarem apenas um ano de diferença entre elas, era esperado que a grande maioria dos alunos envolvidos no estudo estivessem numa faixa etária predominante (16-24 anos). Além da idade predominante, observa-se uma marcante presença do sexo feminino entre os participantes. Um dado esperado, pois a feminização do curso de enfermagem tem uma predominância histórica (BULLÉ et al., 2016). Dessa forma, as variáveis de sexo e idade se assemelham entre as cinco turmas analisadas, como podemos ver a similaridade dos dados na Tabela 3.

Tabela 3: Distribuição da amostra por sexo e turma

ANO LETIVO	SEXO		TOTAL
	Masculino	Feminino	
1º ano	5	16	21
2º ano	5	24	29
3º ano	6	25	31
4º ano	5	24	29
5º ano	6	17	23

Outra variável abordada no questionário aplicado foi em relação ao conhecimento dos alunos que participaram da pesquisa a respeito de infecções hospitalares. Um tema bastante importante, pois envolve diversas atitudes e atividades que podem prevenir e impedir que uma infecção ou até mesmo uma disseminação no ambiente de trabalho bem como na sociedade. Tendo isto como base, o questionário continha tópicos específicos para avaliar o conhecimento dos alunos envolvidos no estudo. Assim, quando foi perguntado de forma direta como o aluno classificava seus conhecimentos a respeito do controle de infecção, 94 (70,67%) dos 133 alunos respondeu que considera seus conhecimentos suficientes e 39 (29,32%) respondeu que considera seus conhecimentos insuficientes.

Entre as turmas verificou-se que mais de 60% dos alunos das turmas do segundo ao quinto ano respondeu que seus conhecimentos são suficientes, alcançando 93,10% na turma do segundo ano e 82,61% na turma do quinto ano. Já a turma do primeiro ano, esse número foi inverso, pois a maioria dos alunos (66,67%) respondeu que considera seus conhecimentos insuficientes. O motivo mais provável para esse dado é que os alunos do primeiro ano ainda estão em fase de aprendizagem. É possível compreender a distribuição desses resultados ordenados de acordo com o ano letivo dos alunos como está representado na Figura 8.

O estudo de Nogueira (2014), no qual foi aplicado o mesmo questionário para coleta de dados e teve como população amostral profissionais de enfermagem, revelou que 93,5% dos voluntários respondeu que consideravam seus conhecimentos suficientes. Resultado semelhante ao que foi encontrado em nosso estudo, considerando que os voluntários ainda estão em processo de formação acadêmica.

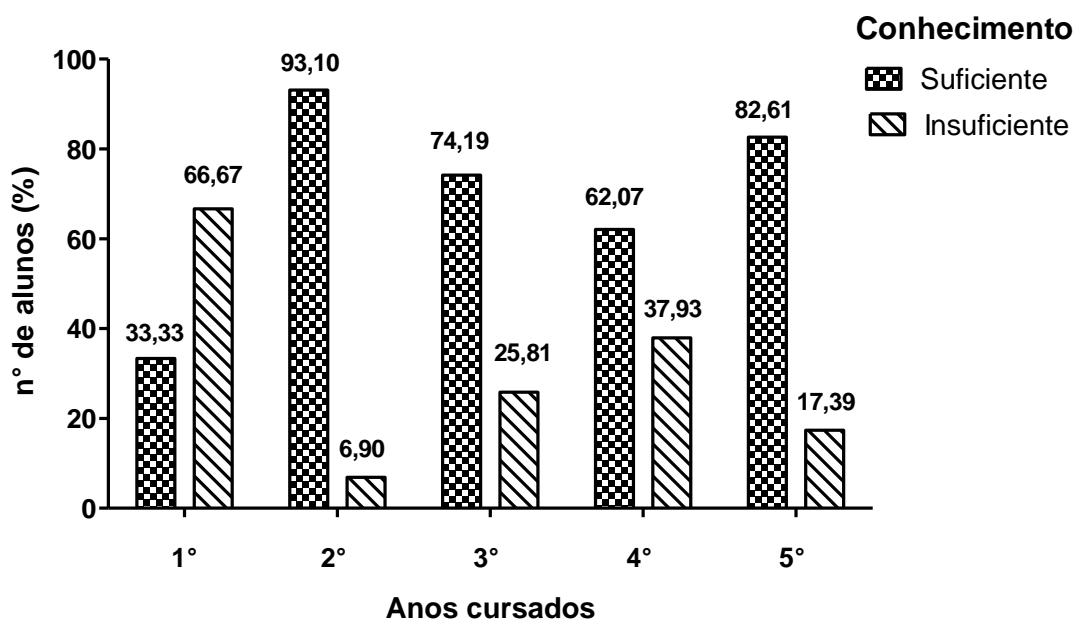


Figura 8: Avaliação do conhecimento de alunos de acordo com o ano letivo

Ainda sobre a avaliação do conhecimento dos alunos, a respeito do tema infecções hospitalares, quando foi questionado se o aluno saberia como atuar diante da detecção de MRSA ou VRSA, observou-se um dado conflitante em relação ao quesito anterior, que questionava os conhecimentos sobre infecção hospitalar. Apenas 11 (8,27%) dos alunos respondeu que sabia como atuar em casos de detecção de MRSA ou VRSA, enquanto a outra parte dos alunos, 122 (91,72%) respondeu que não saberia como atuar nessas situações (Figura 9). Esses dados evidenciam que a maioria dos estudantes que participaram da pesquisa não conhecem os procedimentos gerais sobre prevenção e controle de infecção transmitida por MRSA e VRSA. No entanto, ao comparar o resultado dos alunos da primeira turma com os do quinto ano, observa-se uma diferença de 13,04%, pois é esperado que alunos veteranos demonstrem mais conhecimentos do que as turmas anteriores.

Quando comparados com os achados de Nogueira, nota-se uma diferença acentuada, pois seu estudo evidenciou que 96,8% dos voluntários afirmaram que sabem como atuar perante à detecção de MRSA ou VRSA em um doente. Porém, deve-se levar em consideração que a população analisada foi de profissionais formados e já com experiência em sua área de atuação. Entretanto, o resultado encontrado em nosso estudo revela a importância de se investir ainda mais nos ensinamentos sobre prevenção e controle de infecção na grade curricular dos alunos do curso de enfermagem.

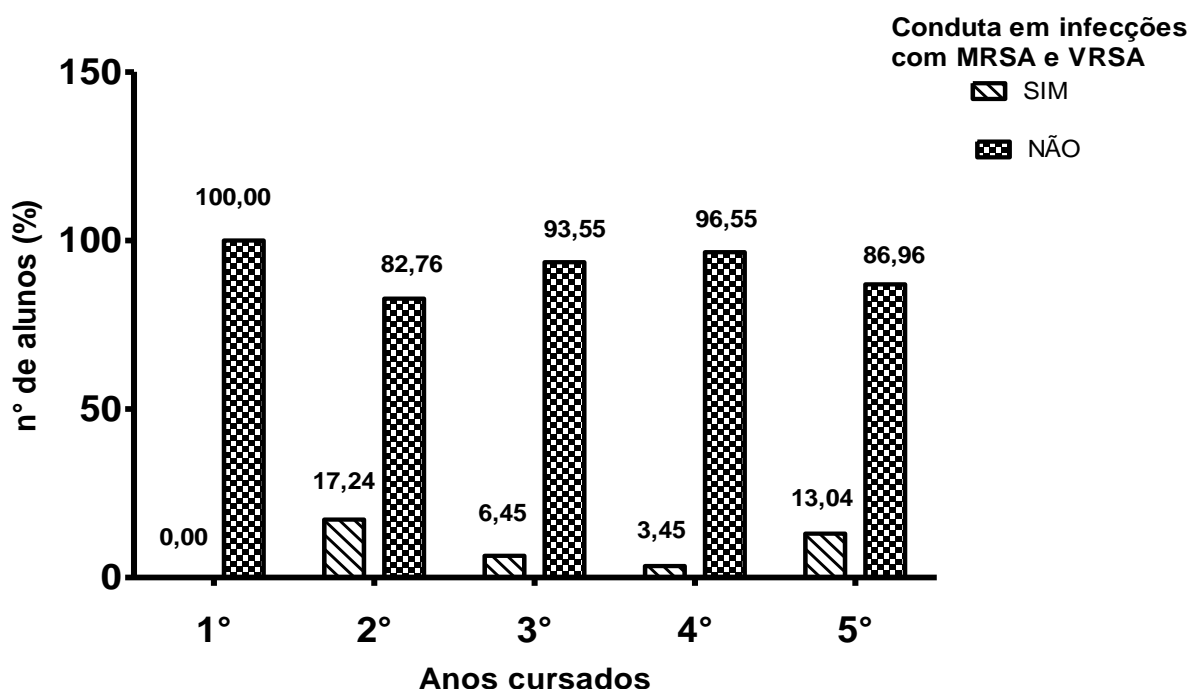


Figura 9: Distribuição dos alunos ao longo dos ciclos de acordo com o conhecimento sobre conduta em infecções com MRSA e VRSA.

5.2 PREVALÊNCIA DE *S. aureus* OBSERVADA NA POPULAÇÃO ESTUDADA

Como já foi mencionado no item 5.1, o estudo envolveu um total de 133 alunos, dos quais 52 eram colonizados por *S. aureus*, o que revela uma prevalência de 39,09%. Quanto a colonização de acordo com o sexo do aluno, observou-se uma prevalência de 38,67% (41) no público do sexo feminino. Já para o público masculino, observou-se uma taxa de 40,80% (11) de colonizados por *S. aureus*. Esse resultado pode ser compreendido observando a Tabela 4, que mostra a relação de alunos colonizados de acordo com o sexo.

Tabela 4: Distribuição de portadores de acordo com o sexo

Sexo	Colonização Nasal		Total
	Sim	Não	
Masculino	11 40,80%	16 59,20%	27 (100,0%)
Feminino	41 38,67%	65 61,32%	106 (100,0%)
Total	52 39,09%	81 60,90%	133 (100,0%)

A prevalência observada na população analisada está de acordo com os achados na literatura mais atual, onde podemos encontrar resultados que variam de 20% a 40%, como é mostrado no item 2.3. Segundo Kpeli e colaboradores (2016), essa prevalência pode ser de até 50% em pacientes diabéticos insulino-dependentes e em pacientes em hemodiálise (KPELI et al., 2016; LOPES et al., 2016).

5.3 PREVALÊNCIA DE *S. aureus* RELACIONADA AO ANO DE GRADUAÇÃO

Como foi descrito no item 5.2, o estudo identificou uma prevalência de 39,09% entre os alunos participantes. Quando relacionada ao número de anos cursados na universidade, identificou-se uma maior taxa de alunos colonizados por *S. aureus* no terceiro ano letivo que apresentou 18 (58,06%) dos 31 alunos envolvidos na pesquisa colonizados, seguido do quarto e do quinto ano que apresentaram 10 (34,48%) e 11 (47,83%) respectivamente. Em contrapartida, constatou-se uma menor taxa nos alunos do 2º ano letivo que revelou uma taxa de três (10,34%) alunos colonizados por *S. aureus*, como mostra a tabela 5. A diferença de prevalência entre as turmas é devido ao fato de alunos do terceiro, quarto e quinto ano desenvolverem atividades em ambiente hospitalar é muito mais frequente que as primeiras turmas, pois nesse período da graduação os alunos já fazem estágios em hospitais.

Outro dado importante é a alta taxa de alunos do primeiro ano colonizados por *S. aureus*, como é possível observar na Figura 10. Por conveniência, deveria apresentar uma taxa de colonizados menor em relação as demais turmas envolvidas no estudo, já que esses alunos vieram diretamente da comunidade e até então não possuem atividades rotineiras em hospitais ou unidades básicas de saúde como as turmas veteranas. Entretanto, esse resultado é semelhante ao de outros estudos como o de Faria e colaboradores (2011), o qual evidencia uma prevalência de 100% de colonizados na população do primeiro ano do curso de enfermagem o qual analisou.

Tabela 5: Prevalência de *S. aureus* a partir do ano de graduação

Ano de graduação	Nº de alunos	Nº de <i>S. aureus</i> isolados
1º ano	21	10 (47,62%)
2º ano	29	3 (10,34%)
3º ano	31	18 (58,06%)
4º ano	29	10 (34,48%)
5º ano	23	11 (47,83%)

Ao observar a prevalência determinada em alunos do último ano da graduação, percebe-se que o valor encontrado (47,83%) corrobora com os resultados encontrados em estudos semelhantes. Esse dado se assemelha aos achados de Vieira e colaboradores (2017), que em seu estudo, realizou a pesquisa envolvendo 147 alunos do curso de medicina e enfermagem, sendo 32 do curso de enfermagem. Em sua pesquisa, relata que encontrou uma prevalência de 45,5% em alunos com mais tempo de atividades acadêmicas. Resultado semelhante ao nosso estudo.

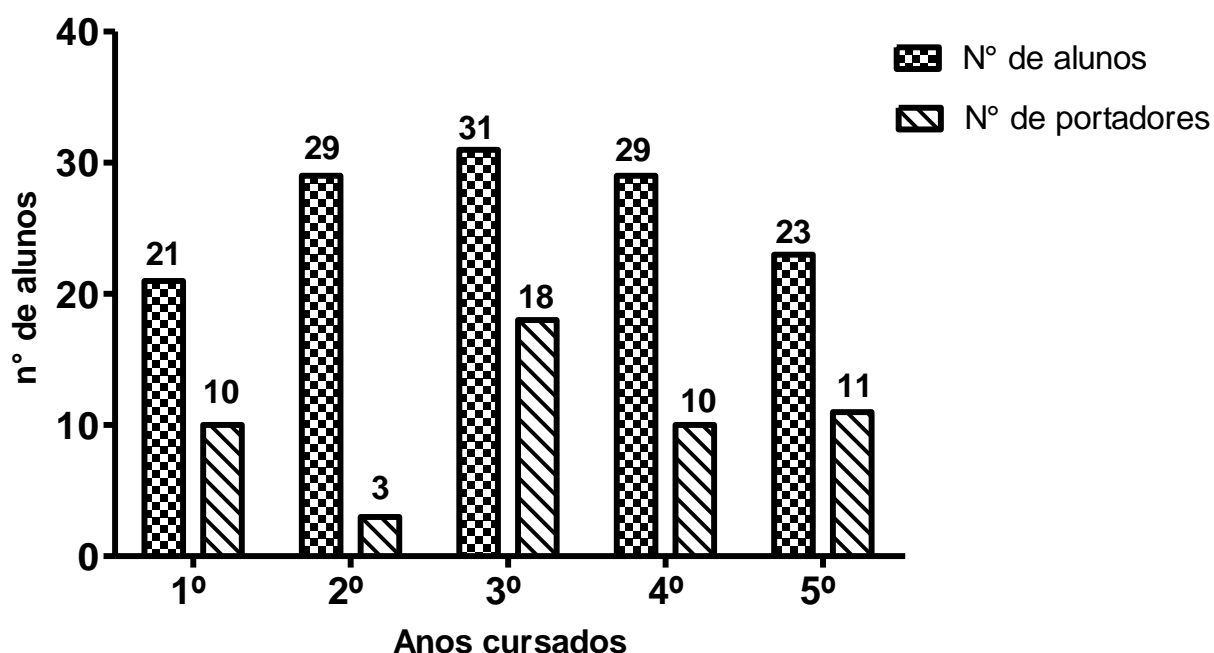


Figura 10: Presença de *S. aureus* nas turmas envolvidas no estudo

5.4 PERFIL DE RESISTÊNCIA DE *S. aureus* ISOLADOS

Após realizar todas as provas para identificação e isolamentos das amostras, as cepas classificadas como *S. aureus* foram submetidas ao teste de sensibilidade a antibióticos descritos no item 4.6.8. O teste foi realizado de acordo com os padrões estabelecidos pelo CLSI. É importante destacar que os resultados do perfil de sensibilidade de oxacilina e amoxicilina + ácido clavulânico foram analisados com base na versão do CLSI volume 27, (1) de 2006, pois a versão mais atual (2016) não dispõe de valores de referência para o método de disco difusão para esses fármacos, bem como para a vancomicina.

Para avaliar o perfil de sensibilidade o CLSI recomenda que sejam utilizados discos de cefoxitina que confere um resultado mais fidedigno. Comenta ainda que se for determinada a resistência a cefoxitina (equivalente à resistência a oxacilina) a cepa analisada deve ser considerada resistente também a amoxicilina + ácido clavulânico. Já para o perfil de sensibilidade da vancomicina, o CLSI volume 27, (1) de 2006, recomenda que as cepas que obtiverem um halo de inibição ≤ 14 mm devem proceder a realização do teste para determinar a CIM, pois o método de disco-difusão não determina a susceptibilidade ao antibiótico. Entretanto, por questão de viabilidade de recursos, analisou-se o perfil de resistência a oxacilina e amoxicilina + ácido clavulânico pelo método de disco-difusão.

Como já foi mencionado no item 5.2, o estudo observou que 39,09% (52) das cepas isoladas foram classificadas como sendo *S. aureus* de acordo com as provas de isolamento realizadas. Foi realizado o antibiograma das cepas isoladas e de acordo com os valores de referência estabelecidos pelo CLSI (2006). Para oxacilina, observou-se a presença de uma (1,92%) cepa resistente a oxacilina apresentando um halo de inibição de sete (7) milímetros.

Já para os demais antimicrobianos testados o estudo evidenciou que sete (13,46%) das cepas foram resistentes à tetraciclina, sete (13,46%) ao ciprofloxacino, quatro (7,69%) à amoxicilina + ácido clavulânico, um (1,92%) ao norfloxacino, 23 (44,23%) à azitromicina e 25 (48,07%) à eritromicina como pode ser visualizado na Figura 11. As altas taxas de resistência frente a azitromicina e eritromicina pode estar diretamente ligado ao uso irracional desses antibióticos entre os participantes.

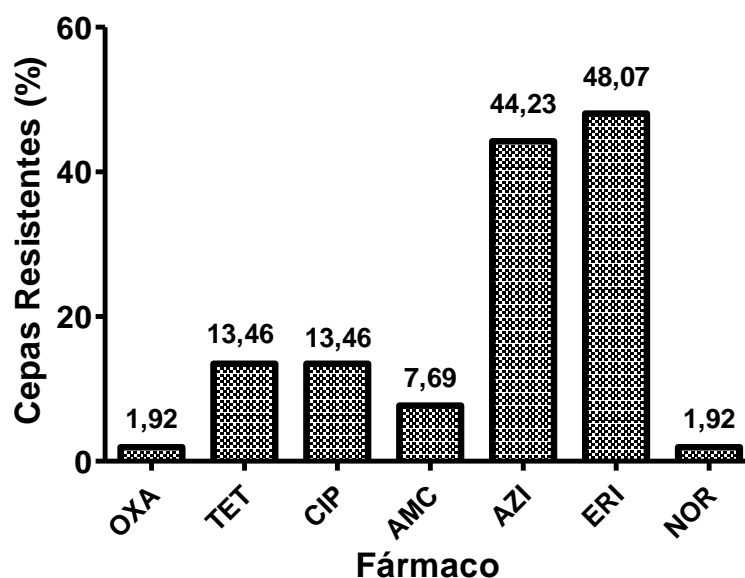


Figura 11: Quantitativo de cepas resistentes frente aos antimicrobianos testados.

** OXA - oxacilina; TET - tetraciclina; CIP - ciprofloxacino; AMC - amoxicilina + ácido clavulânico; AZI - azitromicina; ERI - eritromicina; NOR - norfloxacino.

Tendo como base esses resultados, é importante destacar que não há consenso em relação ao perfil de resistência, uma vez que varia de população para população, caracterizando uma individualidade ao nosso estudo. Podemos perceber essa variabilidade no estudo de Faria e colaboradores (2011), onde evidenciou 82,4% das cepas isoladas resistentes a eritromicina e 65,9% resistentes a tetraciclina. Já Ribeiro e colaboradores (2014), relataram em seu estudo que 50% dos isolados apresentaram resistência a ciprofloxacino.

Em relação aos valores encontrados para vancomicina, observou que 12 cepas apresentaram halo de inibição ≤ 14 mm, e por esse motivo, como já foi citado anteriormente, é necessário realizar o teste por método de CIM para determinar o perfil real de resistência dessas e das outras cepas isoladas, sendo esse achado um indicativo para resistência à vancomicina.

Ao observar o número de cepas que foram resistentes notou-se que 48,07% das cepas apresentou resistência a no mínimo um antimicrobiano testado e 21,15% apresentou resistência entre três e quatro fármacos testados. Esse resultado se assemelha com os dados obtidos por Costa e colaboradores (2016), no qual observou que 45,5% das cepas apresentaram resistência a pelo menos um dos fármacos testados.

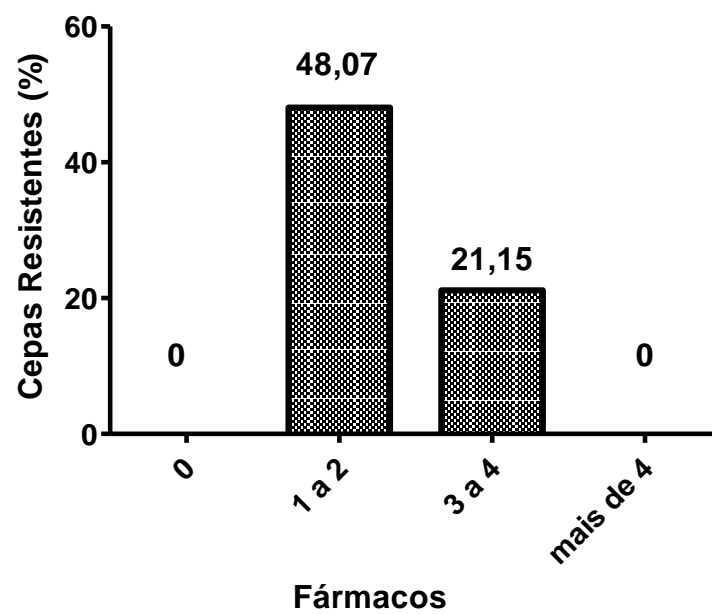


Figura 11: Percentual de cepas resistentes a mais de um antibiótico

6 CONCLUSÃO

Observou-se uma prevalência de 39,09% de alunos colonizados, sendo esse um resultado esperado, tendo como base diversos estudos do mesmo seguimento. Esse dado é bastante relevante, pois, além do risco de causar infecção em pacientes imunocomprometidos, verifica-se a possibilidade de disseminação das cepas tanto em ambientes comunitários quanto hospitalares.

A respeito do perfil de resistência dos *S. aureus* isolados, observou-se uma elevada taxa de resistência para azitromicina e eritromicina, e uma taxa moderada para tetraciclina e ciprofloxacino. Além do mais, foi possível determinar o perfil dos antimicrobianos testados, podendo observar concordância com outros estudos. Dessa forma, torna-se de importância capital transmitir esses dados para a CCIH (Comissão de Controle de Infecção Hospitalar) do hospital no sentido de aplicação de medidas de prevenção e controle de infecções hospitalares causadas por *S. aureus*.

Para dar seguimento ao trabalho desenvolvido, faz-se necessário a realização de outros testes como o de reação em cadeia da polimerase (PCR) para determinação e confirmação da identidade das cepas, bem como presença dos genes determinantes de resistência

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, M. I. B. P.; ALVES, F. A.; VELARDE, L. G. C.; PINHEIRO, M. G.; LIMA, E. M.; SOUZA, A. T. A. M.; MARASSI, BIANCA DRAY CARDOSO, C. A. A. Colonização nasal e infecção por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina em crianças com varicela *Staphylococcus aureus* and methicillin-. **Revista de Pediatria SOPERJ**, v. 15, p. 13–22, 2015.

ALVAREZ, P. A.; MIMICA, M. J. Síndrome do choque tóxico. **Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo**, v. 57, n. 2, p. 81–84, 2012.

ANVISA. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 9: Infecções Virais. p. 150, 2013.

ARANTES, T.; PAIXÃO, G. O. D.; SILVA, M. D.; CASTRO, C. S. de amorim. Avaliação da colonização e perfil de resistência de *Staphylococcus aureus* em amostras de secreção nasal de profissionais de enfermagem. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 1, p. 30–34, 2013.

ATIQUE, T. S. C.; LIMA, T. A. M. de; SOUZA, V. A. de; PACHECO, P. F. C.; FURINI, A. A. da C. Sensibilidade à metilicina / oxacilina de *Staphylococcus aureus* isolados da mucosa nasal de alunos do Centro Universitário de Rio Preto. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 3, p. 347–352, 2012.

BULLÉ, D. J.; POTTER, C.; ARNHOLD, G. H. de O.; SANTOS, C. E. dos S.; ARCADEPANI, T.; REUTER, C. P.; RENNEN, J. D. P. PREVALÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* METICILINA RESISTENTES EM PROFISSIONAIS DE SAÚDE. **Rev de Enfermagem UFSM**, v. 6, n. 2, p. 198–205, 2016.

CARVALHO, M. S. M.; ANDRADE, D. F. R. de; SOUSA, Á. F. L. de; VALLE, A. R. M. da C. Colonização nasal por *Staphylococcus aureus* entre estudantes de Enfermagem : subsídios para monitorização. v. 69, n. 6, p. 1046–1051, 2016.

CERVANTES-GARCÍA, E.; GARCÍA-GONZÁLEZ, R.; SALAZAR-SCHETTINO, P. M. Características generales del *Staphylococcus aureus*. **Rev Latinoam Patol Clin Med Lab**, v. 61, n. 1, p. 30–32, 2014. Disponível em: <<http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>>.

COSTA, A. R.; BATISTÃO, D. W. F.; RIBAS, R. M.; SOUSA, A. M.; PEREIRA, O.; BOTELHO, C. M. Staphylococcus aureus virulence factors and disease. **Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education**, p. 702–710, 2013.

DIAWARA, I.; BEKHTI, K.; ELHABCHI, D.; SAILE, R.; ELMDAGHRI, N.; TIMINOUNI, M.; ELAZHARI, M. Staphylococcus aureus nasal carriage in centers of Casablanca (Morocco). **Iranian Journal of Microbiology**, v. 6, p. 175–183, 2014.

EKO, K. E.; FORSHEY, B. M.; CARREL, M.; SCHWEIZER, M. L.; PERENCEVICH, E. N.; SMITH, T. C. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal colonization and infection isolates in a Veterans Affairs hospital. **Antimicrob. Resist. Infect. Control**, v. 4, n. 2047–2994 (Electronic), p. 10, 2015.

EVANGELISTA, S. de S.; OLIVEIRA, A. C. de. Staphylococcus aureus metilino resistente adquirido na comunidade: um problema mundial. **Revista Brasileira de Enfermagem - REBEn**, v. 68, n. 1, p. 136–143, 2015.

FARIA, S. T.; CRISTINA, A.; PIEKARSKI, R.; CRISTINA, M.; TOGNIM, B.; BORELLI, S. D.; BEDENDO, J. isolados de estudantes de enfermagem , 2008 *. **Acta Paul Enferm**, v. 24, n. 2, p. 213–218, 2011.

FELDHAUS, J. C.; R., B. K.; YAMANAKA, C. N.; OLIVEIRA, A. C. S.; JOÃO GURGEL C. DA SILVEIRA, C. M. M. de C. Colonização por MRSA no projeto piloto do estudo SHIP-Brasil. **RBAC**, v. 48, n. 1, p. 27–32, 2016.

GELATTI, L. C.; BINAMIGO, R. R.; BECKER, A. P.; AZEVEDO, P. A. Staphylococcus aureus. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 5, p. 501–506, 2009.

KATEETE, D. P.; KIMANI, C. N.; KATABAZI, F. A.; OKENG, A.; OKEE, M. S.; NANTEZA, A.; JOLOBA, M. L.; NAJJUKA, F. C. Identification of Staphylococcus aureus: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 9, p. 23, 2010.

Disponível

em:

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20707914>\n<http://www.pubmedcentral.nih.gov/>

articlerender.fcgi?artid=PMC2927478>.

KPELI, G.; DARKO OTCHERE, I.; LAMELAS, A.; BUULTJENS, A. L.; BULACH, D.; BAINES, S. L.; SEEMANN, T.; GIULIERI, S.; NAKOBU, Z.; ABOAGYE, S. Y.; OWUSU-MIREKU, E.; PLUSCHKE, G.; STINEAR, T. P.; YEBOAH-MANU, D. Possible healthcare-associated transmission as a cause of secondary infection and population structure of *Staphylococcus aureus* isolates from two wound treatment centres in Ghana. **New Microbes and New Infections**, v. 13, p. 92–101, 2016.

LACEY, K.; GEOGHEGAN, J.; MCLOUGHLIN, R. The Role of *Staphylococcus aureus* Virulence Factors in Skin Infection and Their Potential as Vaccine Antigens. **Pathogens**, v. 5, n. 1, p. 22, 2016. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-0817/5/1/22>>.

LIMA, M. F. P.; BORGES, M. A.; PARENTE, R. S.; JÚNIOR, R. C. V.; OLIVEIRA, M. E. *Staphylococcus aureus* E AS INFECÇÕES HOSPITALARES – REVISÃO DE LITERATURA *Staphylococcus aureus* AND NOSOCOMIAL INFECTIONS - LITERATURE REVIEW. **Revista UNINGÁ**, v. 21, n. 1, p. 32–39, 2015. Disponível em: <<http://www.mastereditora.com.br/review>>.

LOPES, L. P.; REINATO, L. A. F.; CANINI, S. R. M. da S.; MALAGUTI-TOFFANO, S. E. Identificação de *Staphylococcus aureus* em profissionais de enfermagem que cuidam de pessoas com HIV/AIDS* Identification. v. 20, n. 4, p. 1–8, 2016.

LOUREIRO, R. J.; ROQUE, F.; TEIXEIRA RODRIGUES, A.; HERDEIRO, M. T.; RAMALHEIRA, E. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saude Publica**, v. 34, n. 1, p. 77–84, 2016.

MURRAY, P. R.; ROSENTHA, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009

NASCIMENTO, J. P. M.; RAMOS, R. L. B. STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA EM JALECOS DE ESTUDANTES DE ENFERMAGEM. **Revista Saúde.Com**, v. 12, n. 1, p. 463–469, 2016.

NAZARETH, R.; GONÇALVES-PEREIRA, J.; TAVARES, A.; MIRAGAIA, M.; DE

LENCASTRE, H.; SILVESTRE, J.; FREITAS, P.; GONÇALVES, E.; MARTINS, F.; MENDES, V.; TAPADINHAS, C.; PÓVOA, P. Infecção por staphylococcus aureus metilina-resistente da comunidade em Portugal. **Revista Portuguesa de Pneumologia**, v. 18, n. 1, p. 34–38, 2012.

NOGUEIRA, A. \Catarina da C. **Infecção hospitalar por staphylococcus aureus resistente à metilina associada aos cuidados de enfermagem**. 2014. 2014.

OKAMO, B.; MOREMI, N.; SENI, J.; MIRAMBO, M. M.; KIDENYA, B. R.; MSHANA, S. E. Prevalence and antimicrobial susceptibility profiles of Staphylococcus aureus nasal carriage among pre-clinical and clinical medical students in a Tanzanian University. **BMC Res Notes**, v. 9, p. 47, 2016. Disponível em: <"http://dx.doi.org/10.1186/s13104-016-1858-0">.

OLIVEIRA, C. F. de; MOREY, A. T.; BIASI-GARBIN, R. P.; PERUGINI, M. R. E.; YAMAUCHI, L. M.; YAMADA-OGATTA, S. F. Emergência de Staphylococcus aureus resistentes aos antimicrobianos: um desafio contínuo. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 13, n. 2, p. 242–247, 2014.

RODRIGUES, S. da C. S.; FECURY, A. A.; DIAS, C. A. G. D. M.; OLIVEIRA, E. de. Ocorrência de Staphylococcus Aureus em Hospitais Públicos Brasileiros: Uma Revisão Bibliográfica Ocorrência de Staphylococcus Aureus em Hospitais Públicos Brasileiros: Uma Revisão Bibliográfica. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento** –, v. 2, n. 1, p. 33–42, 2016.

SALES, L. M.; SILVA, tatiane M. Staphylococcus aureus METICILINA RESISTENTE: UM DESAFIO PARA A SAÚDE PÚBLICA. v. 3, p. 103–113, 2012.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. – Porto Alegre, Artmed, 2012.

VIEIRA, M. C.; FONTES, M.; BRITO, D. F.; SOARES, C.; LUCIA, N.; RAYMUNDO, S.; MORAES, R. Susceptibilidade antimicrobiana de Staphylococcus aureus isolados em acadêmicos de Enfermagem e Medicina. **Salus J Health Sci.**, v. 3, n. 1, p. 13–22, 2017.

WAN, T. W.; TOMITA, Y.; SAITA, N.; KONNO, K.; IWAO, Y.; HUNG, W. C.; TENG, L. J.; YAMAMOTO, T. Emerging ST121/agr4 community-associated methicillin-

resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with strong adhesin and cytolytic activities: Trigger for MRSA pneumonia and fatal aspiration pneumonia in an influenza-infected elderly. **New Microbes and New Infections**, v. 13, p. 17–21, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.nmni.2016.05.011>>.

ZURITA, J.; TRABALHO, G. De; VOZANDES, H.; ROOSEVELT, H. Diagnóstico e teste de sensibilidade para *Staphylococcus aureus* resistente à metilina na América Latina. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 14, p. 97–107, 2010.

8 APÊNDICES

8.1 APÊNDICE 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) Senhor(a), você está sendo convidada a participar, como voluntário(a), em uma pesquisa científica. No caso de aceitar esse convite, você deverá responder ao questionário. Você terá liberdade para pedir esclarecimentos sobre qualquer questão, bem como desistir de participar da pesquisa a qualquer momento. Sua desistência não acarretará nenhuma penalidade a você. Como responsável por este estudo, tenho o compromisso de manter em segredo todos os dados pessoais, bem como compensá-lo(a) caso sofra algum prejuízo físico ou moral causado pela pesquisa, que possui risco mínimo e benefício direto ao pesquisado. Essa pesquisa tem como objetivo analisar o perfil de resistência de linhagens de *Staphylococcus aureus* isoladas de estudantes da área de Saúde da Universidade Federal de Sergipe Campus Lagarto e dos profissionais de Saúde do Hospital Regional de Lagarto. Os resultados e questionários serão armazenados em armário com chave e os resultados ficarão guardados na Universidade até a análise, sob a responsabilidade do Professor Dr Rafael Ciro Marques Cavalcante; e somente os membros participantes desse estudo terão acesso aos questionários e/ou resultados. Ao final da pesquisa as informações serão descartadas. Cada voluntário participante terá acesso apenas ao seu próprio resultado. A qualquer momento o(a) senhor(a) poderá solicitar e acompanhar a destruição de seus dados dos nossos Bancos de Dados, entrando em contato com o pesquisador responsável. Assim, se estiver claro para o(a) senhor(a) a finalidade desta pesquisa e se concorda em participar, peço que assine este documento. Meus sinceros agradecimentos por sua colaboração. **Rafael Ciro Marques Cavalcante** (Professor Responsável pelo Banco de Amostras e Resultados, telefone: 79-991757585 e-mail: rafaelciro@gmail.com).

() não () autorizo o envio dos resultados ao meu endereço, via carta.

Eu, _____,
aceito participar da pesquisa intitulada "Análise do perfil de resistência de
linhagens de *Staphylococcus aureus* isoladas de estudantes da área de Saúde
da Universidade Federal de Sergipe Campus Lagarto e de profissionais de
Saúde do Hospital Regional de Lagarto.

_____, ____ / ____ / ____
Local dia mês ano

Assinatura do Responsável

8.2 APÊNDICE 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

QUESTIONÁRIO

Parte I – CARACTERIZAÇÃO DA EQUIPE

De acordo com a sua situação assinale com um X.

1- Dados Pessoais

1.1 – Sexo:

☐ Feminino ☐ Masculino

1.2 – Idade

☐ 16 a 24 anos ☐ 30 a 34 anos
☐ 25 a 29 anos ☐ 35 ou mais

2- Habilitações Acadêmicas

2.1 - Graduação em andamento

☐ Enfermagem ☐ Medicina

3- Experiência

Tempo de atividade acadêmica no hospital

☐ 1 ano ou menos: _____ ☐ 3 a 4 anos
☐ 2 a 3 anos ☐ 5 ou mais

PARTE II – FORMAÇÃO NA ÁREA DA PREVENÇÃO E CONTROLE DE INFECÇÃO

Tendo em conta o nível de formação que possui na área das intervenções na prevenção e controle de infecção hospitalar, assinale com um X as respostas que mais se encaixam com a sua situação:

1 - Considera que os seus conhecimentos na área da prevenção e controle de infecção são:

- ☐ Suficientes ☐ Insuficientes

2- Tem formação na área da prevenção e controle de infecção?

- ☐ Sim ☐ Não

2.1 - Se respondeu Sim, onde adquiriu essa formação?

- ☐ Formação em serviço ☐ Congressos
☐ Seminários ☐ Outros

2.1.1 Se respondeu outros, refira em que contexto.

3. Quando foi a última vez que teve formação na área de prevenção e controle de infecção?

- ☐ No último ano ☐ Há mais de 3 anos
☐ Nos últimos 3 anos

PARTE III – CONHECIMENTOS NA ÁREA DA PREVENÇÃO E CONTROLE DE INFECÇÃO POR MRSA (*Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina) E POR VRSA (*S. aureus* resistente à Vancomicina).

Tendo em conta os conhecimentos que possui acerca da prevenção e controle de infecção por MRSA e VRSA responda às seguintes perguntas de forma sucinta.

1- Quais são os principais locais passíveis de colonização por MRSA e VRSA que conhece?

Quais são os principais veículos de transmissão de MRSA e VRSA que conhece?

3 - Que equipamentos de proteção individual (EPI's) se deve adotar perante a um doente com MRSA e VRSA?

4- Conhece o procedimento geral sobre a Prevenção e Controle de Infecção Transmitida por MRSA e VRSA (Nº. Doc 126.00 aprovado em 10/08/2012)?

☐ Sim ☐ Não

5 - Sabe como atuar perante a detecção de MRSA ou VRSA num doente?

☐ Sim ☐ Não

Se “Sim”, como atuaria?

6 – Sabe quantos casos de MRSA e VRSA houve no serviço entre os anos 2013 a 2015?

☐ Sim ☐ Não

PARTE IV – CONHECIMENTOS NO AUTO-CUIDADO

1- Já fez uso de algum antibiótico?

☐ Sim ☐ Não

1.1- Se respondeu sim, quantos?

☐ De uma a três ☐ Quatro a cinco
☐ Acima de cinco ☐ Não sabe responder

1.2- Se respondeu sim, quais? _____

1.3- Todos os antibióticos que fez uso foram prescritos por um médico?

☐ Sim ☐ Não

1.4- Em todas as administrações seguiu corretamente as informações da bula?

☐ Sim

☐ Não

2- Onde você costuma adquirir os antibióticos?

☐ Farmácia Comercial

☐ Farmácia pública

☐ Parentes ou amigos

Se sim, quantos? _____

☐ Sim

☐ Não

3- Onde você costuma adquirir os antibióticos?

☐ Farmácia Comercial

☐ Farmácia pública

☐ Parentes ou amigos

Obrigado (a) pela atenção/colaboração demonstrada.